

**Die Rolle des Reticuloendothelialen Systems für
den Abbau der Organproteine am Beispiel der
cystoplasmatischen Glutamat – Oxalacetat-Transaminase
aus Schweineherz**

vorgelegt von

Adnan, Abdul-Ridha

1978

Aus der Medizinischen Universität-Poliklinik
der Philipps-Universität Marburg a. d. Lahn
(Komm. Direktor: Prof. Dr. Kaffarnik)

Die Rolle des Reticuloendothelialen Systems für
den Abbau der Organproteine am Beispiel der
cytoplasmatischen Glutamat – Oxalacetat-Transaminase
aus Schweineherz

Doktorarbeit

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des hohen Fachbereichs Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Adnan, Abdul-Ridha
aus Irak/Mischkahb
Marburg/Lahn 1978**



Inhaltsverzeichnis

Einleitung

Rolle des Intestinaltraktes

Rolle der Niere und Leber

Rolle des Reticuloendothelialen Systems (RES)

A: Methodik

A 1 Vorbereitung und Injektion der Tiere

A 2 Messung der Radioaktivität

A 3 Bestimmung der Schwundrate des markierten Proteins

A 4 Histologische Untersuchung der Leber und Milz

Statistik

B: Ergebnisse

B 1 Histologische Veränderung der Leber und der Milz

B 2 Das Verhalten der PBJ – Radioaktivität im Serum

Diskussion

Zusammenfassung

Literatur

Einleitung

Während über den Syntheseort der Proteine weitgehend Klarheit besteht, ist wenig über die Elimination und den Ort des Abbaues der Proteine bekannt. So haben sich zahlreiche Autoren mit der Schwundrate und dem Abbauort von Albuminen, Immunglobulinen, Makroglobulinen, Präalbumin, Haptoglobulinen, Hämoglobin, Transferin, Coeruloplasmin, Fibrinogen, Gerinnungsfaktoren und den Komplementen beschäftigt. (40). Die Ergebnisse über den Abbau des am intensivsten erforschten Proteins, nämlich des Albumin, zeigen, wie umstritten dieses Problem ist. (40).

Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurden der Intestinaltrakt, das Reticuloendotheliale System und die Leber sowie die Niere als Ort des Abbaues der Proteine in den Vordergrund gestellt.

Rolle des Intestinaltraktes

Während Wetterfors und Mitarbeiter (45), und Ullberg und Mitarbeiter (42), dem Intestinaltrakt eine bedeutende Rolle für den Abbau der Proteine zusprachen, fanden Franks und Mitarbeiter (15) sowie Kratz und Mitarbeiter (25) nach operativer Entfernung eines Teiles des Intestinaltraktes keine Veränderung der Abbaurate des markierten Proteins.

Fleischer und Wakim konnten nach intravenöser Injektion von hohen Dosen hochgereinigter Enzyme keinen wesentlichen Verlust des Enzymproteins durch den Intestinaltrakt feststellen (14).

Massarrat und Köbler stellten mit Hilfe der jodmarkierten Glutamat-Oxalacetat Transaminase aus Schweineherzcytoplasma keinen ins Gewicht fallenden Schwund der intravenös injizierten Dosis im Intestinaltrakt fest (30).

Rolle der Niere und Leber

Nach der Untersuchung von Bott und Mitarbeiter (7) ist die Renale Clearance der Proteine von der Permeabilität der Glomerulummembran und von dem Molekulargewicht des Proteins abhängig. Bei Proteinen mit niedrigem Molekulargewicht ist die Ausscheidung in der Niere häufig zu beobachten, wie z. B. bei Amylase und bei Bence-Jones-Proteinen. Unter pathologischen Bedingungen mit erhöhter Permeabilität der Glomerulummembran, wie z. B. bei venöser Stauung, ist mit einer renalen Ausscheidung der Proteine mit höherem Molekulargewicht zu rechnen (9). Für niedermolekulare Proteine, wie Amylase, die man bei akuter Pankreatitis im Urin nachweisen kann, wurde nach intravenöser Injektion bei Hunden allerdings eine geringe Ausscheidung im Urin nachgewiesen (23). Allgemein wird jedoch die Meinung vertreten, daß der Niere, wenn überhaupt, lediglich eine Bedeutung für den Abbau der niedermolekularen Verbindung zukommt (44).

Was das Enzym Glutamat-Oxalacetat Transaminase (GOT) anbetrifft, konnten Fleischer und Wakim für das Enzym cytoplasmatischer Herkunft 0,4% und für das Enzym mitochondrialer Herkunft 0,1% der Menge des injizierten Enzyms im Urin nachweisen (12).

Massarrat und Köbler konnten 8 Stunden nach intravenöser Injektion von jodmarkierter GOT aus Schweineherzcytoplasma 0,04%-1,4% der intravenös injizierten proteingebundenen Radioaktivität im Urin nachweisen (30).

Die Rolle des Abbaus der Proteine in der Leber ist bei den einzelnen Proteinen quantitativ nicht eindeutig gesichert. Während Penn und dessen Mitarbeiter an Rattenleberschnitten fanden, daß das Ausmaß des Albuminabbaues dem Albuminumsatz entspricht (37), konnten Cohen und Gordon aufgrund ihrer Untersuchungen an der perfundierten Leber für den Albuminabbau einen Anteil von mindestens 15% und für den Gamma-globulinabbau einen Anteil bis zu 30% nachweisen (9).

Rolle des Reticuloendothelialen Systems (RES)

Verschiedene Autoren haben ihre Aufmerksamkeit dem Reticuloendothelialen System (RES) als Hauptabbauort der Proteine geschenkt.

Aschoff hat 1924 die Bedeutung der zu diesem System gehörenden Zellen in Bindegeweben, Darm, Knochenmark, Leber, Lymphknoten und Endothelien der Sinusoide und in den Lymphfollikeln der Milz für die Abwehr und Schutzfunktion des Organismus beschrieben (2).

Er konnte zeigen, daß die Abwehrreaktionen des Organismus ausbleiben und die Infektionen schwerer verlaufen, wenn das Reticuloendotheliale System geschädigt wird. Wenn das RES durch bestimmte Mikroorganismen gereizt wird, steigert sich die phagozytierende Eigenschaft des Reticuloendothelialen Systems für diese Mikroorganismen.

Halpern und Mitarbeiter (20) sowie Beancerraf und Mitarbeiter (4) konnten später mit Hilfe der intravenösen Injektion von indischer Tusche (Kolloidaler Kohlenstoff) eine quantitative Methode für die Erfassung der phagozytotischen Tätigkeit des Reticuloendothelialen Systems entwickeln, die dann später ausgebaut und durch andere Verbindungen, wie Thorotrast und Zymosan, ergänzt wurde. Diese Verbindungen beeinflussen nachdem sie im Reticuloendothelialen System gespeichert wurden, fördernd oder hemmend die phagozytotische Funktion der Zellen. Wenn eine Verbindung im Reticuloendothelialen System aufgenommen

und dort abgebaut würde, wie z. B. Antigen-Antikörper-Komplexe, denaturiertes Protein, dann wird durch eine zusätzliche Injektion von Tusche oder Zymosan die Schwundrate dieser Verbindungen verlangsamt oder gesteigert.

Der kolloidale Kohlenstoff (Tusche) wird bei der Ratte 1 1/2 Stunde nach intravenöser Gabe, im Reticuloendothelialen System der Leber und der Milz gespeichert (17).

Zymosan, ein Polysaccharid aus Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) wurde erstmals von Biozzi und Mitarbeiter (6) erforscht. Zymosan bewirkt einerseits eine kurzzeitige Blockierung des Reticuloendothelialen Systems, die unmittelbar nach intravenöser Injektion auftritt (43); andererseits bewirkt Zymosan bei längerer Verabreichung eine gesteigerte Proliferation der Zellen des Reticuloendothelialen Systems.

Bei den Ratten konnte Filkins und Mitarbeiter bei einer Dosierung von 10 mg Zymosan pro Kg. Körpergewicht nach dreimaliger Injektion über sechs Tage eine Zunahme des Milzgewichtes von 76% nachweisen. Weiterhin war eine um das Siebenfache gesteigerte Schwundrate des intravenös verabreichten kolloidalen Kohlenstoffes aus dem Serum festzustellen (11).

Da nach Verabreichung der Tusche die Antigen-Antikörper-Komplexe und das denaturierte Protein langsam aus der Blutbahn verschwinden, wurde dem Reticuloendothelialen System zusätzlich eine besondere Bedeutung für den Abbau von Fremdproteinen beigemessen (5, 16).

Kampine und Mitarbeiter (24) konnten nach dreimaliger Injektion von 10 mg Zymosan pro Kg. Körpergewicht über sechs Tage bei Hunden eine Zunahme des Lebergewichtes um 40% und des Milzgewichtes um 40 bis 50% feststellen. Die phagozytotische Rate für kolloidalen Kohlenstoff stieg bei dieser Behandlung auf das Dreifache an.

Verschiedene Autoren sprachen dem Reticuloendothelialen System auch für den Abbau der Enzyme eine wichtige Rolle zu (12, 14, 21, 25, 27, 28).

Die Ergebnisse aller dieser Autoren basieren auf der Bestimmung der Enzymaktivität im Serum nach Injektion hochgereinigter Enzyme. Unter experimentiellen Bedingungen kann jedoch der Enzymspiegel durch die Freisetzung der endogenen Enzyme aus den Organen ins Plasma erhöht (43) und infolgedessen die Schwundrate des verabreichten Enzymproteins falsch ermittelt werden. Deshalb ist die Heranziehung eines markierten Enzyms für die Studie notwendig. Da die Proteine in einer heterologen Spezies Fremdproteine sind, und der Abbau hier wahrscheinlich eher im Reticuloendothelialen System erfolgt, wird in dieser Arbeit

die Rolle des Reticuloendothelialen Systems für den Abbau der markierten Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherzcytoplasma bei der heterologen Spezies Kaninchen untersucht.

Methode

Wir verwendeten das Enzymprotein Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) aus Schweineherzcytoplasma von der Firma Boehringer und Söhne (Mannheim). Das Protein wurde auf DEAE-Sephadex weiter gereinigt (29). Die Markierung des Proteins erfolgte mit J-125 nach Elektrojodierung in Anlehnung an Rosa und Mitarbeiter (38).

Zur Entfernung des aufgrund der Markierung denaturierten Proteins wurde die biologische Reinigung nach Mac Farlane benutzt (34). Hierzu wurde das jodmarkierte Protein den Kaninchen intravenös injiziert. Zwei bis vier Stunden später wurden diese Tiere mit dreimal 500 Einheiten Heparin entblutet. Das daraus gewonnene Serum wurde dann Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 2,6 bis 5,2 kg injiziert. Alle Kaninchen bekamen drei Tage lang vor Versuchsbeginn sowie während der Untersuchung Kaliumjodid 0,3 mM im Trinkwasser.

Vorbereitung der Injektion der Tiere

Zymosan (Mann Research Laboratory, New York) wurde in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, mit Teflonpotter homogenisiert und dann den Kaninchen intravenös appliziert.

Folgende Gruppen Kaninchen wurden für den Versuch verwendet:

Gruppe A: Es handelt sich um 8 Kaninchen, bei denen zwei Stunden vor intravenöser Injektion des markierten Proteins 10 mg Zymosan/kg Körpergewicht injiziert wurde.

Gruppe B: Es handelt sich hier um 8 Kaninchen, die unmittelbar vor der Injektion des markierten Proteins Kolloidalen Kohlenstoff (indische Tusche, C 11-153 Ia, bezogen von der Firma Pelikan, Hannover) in einer Dosis von 100 mg/kg Körpergewicht in 1 ml Suspensionslösung enthalten, intravenös verabreicht bekamen.

Gruppe C: Hier dienten 13 Kaninchen als Kontrollgruppe, denen lediglich nur jodmarkiertes Protein intravenös injiziert wurde.

Alle Kaninchen der Gruppe A, B, und C wurde intravenös ein biologisch gereinigtes Enzymprotein bis 0,4 Atomjod/Molekül mit einer spezifischen Aktivität von 1,7 bis 8,1 MC/mg Protein injiziert. Die Dosis des injizierten

halblogarithmischem Papier in der Ordinate und die Zeit in der Abszisse eingetragen. Die Halbwertszeit des Proteins wurde für die Eliminationsphase nach bereits erwähnter Methode bestimmt (33).

Bei den Tieren der Gruppe D wurde der in den ersten 24 Stunden nach intravenöser Injektion im Serum verbliebene Anteil der PBJ-Radioaktivität prozentual errechnet.

Histologische Untersuchung der Leber und Milz

Die Leber und die Milz eines Kaninchens der Gruppe B, dem Tusche injiziert worden war, wurden nach Beendigung des Versuches zur histologischen Untersuchung entnommen. Weiterhin wurde die Leber von 10 Kontrollierten und 10 Kaninchen der Gruppe D 2 und D 3, die längere Zeit täglich mit Zymosan behandelt wurden, histologisch untersucht.

Statistik

Alle Mittelwerte und Standardabweichungen wurden mit dem Tischcomputer Olivetti ermittelt. Die Mittelwerte wurden mit einer Standardabweichung angegeben. Die Signifikanz p wurde unter Voraussetzung einer Normalverteilung errechnet.

Ergebnisse

Histologische Veränderungen der Leber und der Milz

Die Tiere, die mit Tusche vorbehandelt waren, zeigten nach Eröffnung der Bauchhöhle auffallende Schwärzung der Leber- und der Milzoberfläche (s. Abb. 1).

Histologisch fanden sich nach Verabreichung der Tusche eine massive Anreicherung von Tusche-Partikeln in allen Kupffer'schen Sternzellen und in den zum Reticuloendothelialen System gehörenden Zellen der Milz (Abb. 2 und 3).

Während bei allen Tieren der Kontrollgruppe, sowie bei den Tieren jener Gruppe mit einmalig injizierter Dosis von Zymosan, die Sternzellenaktivität der Leber schwach bis negativ war, fanden wir in der Gruppe D, welche Zymosan mehrmals injiziert bekam, bei der Hälfte der Tiere eine Schwache bis mäßig starke Aktivierung der Kupffer'schen Sternzellen (Tabelle I). In manchen Lebern kam es zur Bildung von kleinen Granulomen (Abb. 4). Die periportalen Infiltrationen boten in der Kontrollgruppe ebenso wie in der Behandelten Gruppe ein ähnliches Bild*.

*Die Beurteilung der histologischen Präparate verdanke ich Herrn Prof. Schmitz-Moormann, pathologisches Institut, Marburg/Lahn.

Proteins, welche in 2 bis 4 ml Serum des zur biologischen Reinigung benutzten Kaninchens enthalten waren, betrug 0,05 bis 0,35 mg Enzymprotein/kg Kaninchen.

Gruppe D: Hier wurden Kaninchen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils täglich 5-10 mg Zymosan/kg Körpergewicht 1 ml Suspensionslösung intravenös injiziert. Die Versuche wurden in drei Zeitabschnitten durchgeführt.

Im ersten Zeitabschnitt (D 1) wurden 5 Kaninchen mit Zymosan und drei Kaninchen als Kontrolle benutzt.

Im zweiten und dritten Zeitabschnitt (D 2 und D 3) wurden 5 Kaninchen mit Zymosan und 5 Kaninchen ohne Vorbehandlung zur Kontrolle herangezogen. Im ersten Zeitabschnitt wurde ein biologisch gereinigtes Enzymprotein mit 0,28 Atomjod Molekül und einer spezifischen Aktivität von 4,9 Mc/mg verwendet. Der Verlust der Enzymaktivität durch Markierung betrug 63%. Jedem Tier wurde 0,08 mg Enzymprotein/kg Körpergewicht, welches in 2,8 bis 4,0 ml Serum enthalten war, intravenös injiziert.

Den Tieren im zweiten und dritten Zeitabschnitt wurde das markierte Enzymprotein ohne biologische Reinigung mit 0,1 Atomjod/Molekül und einer spezifischen Aktivität von 1,9 Mc/mg Enzymprotein injiziert. Der durch die Markierung bedingte Enzymaktivitätsverlust betrug 51%. Jedem Tier wurde 1,27 mg Enzymprotein intravenös verabreicht.

Das Blut bei allen Kaninchen der Gruppe A, B und C wurde über zwei bis 3 Tage nach der Injektion in Intervallen von mehreren Stunden aus einer Ohrvene entnommen. Bei den Kaninchen der Gruppe D konnte wegen der geringen Radioaktivität der Spiegel im Serum nur in den ersten 24 Stunden verfolgt werden.

Messung der Radioaktivität

Die Radioaktivität wurde mittels des Packard-Instrument, Modell 3375, gemessen. Zur Messung wurden 0,25 bis 0,5 ml Kaninchenserum benutzt. Zuerst wurde die Gesamtradioaktivität und dann die proteingebundene Radioaktivität nach Fällung mit gleichem Volumen 10%iger Trichloressigsäure im Sediment bestimmt.

Bestimmung der Schwundrate des markierten Proteins

Die einzelnen Werte der proteingebundenen Radioaktivität wurden auf

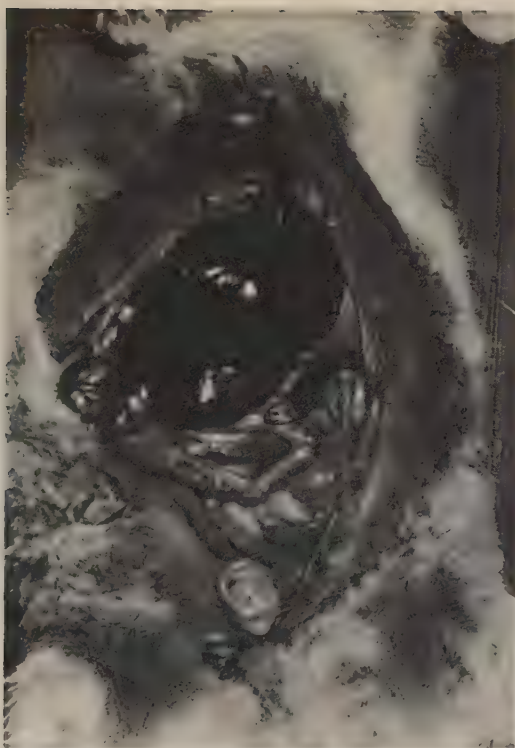


Abb. 1 Bauchorgane eines Kaninchens, dem Tusche injiziert worden war, nach Beendigung des C-GOT-Injektionsversuches. Leber (oben) und Milz (längliches kleines Organ unter der Leber) zeigen gegenüber der hellen Färbung der Darmschlingen und des Mesenteriums eine Schwärzung durch selektive Speicherung der Tusche.

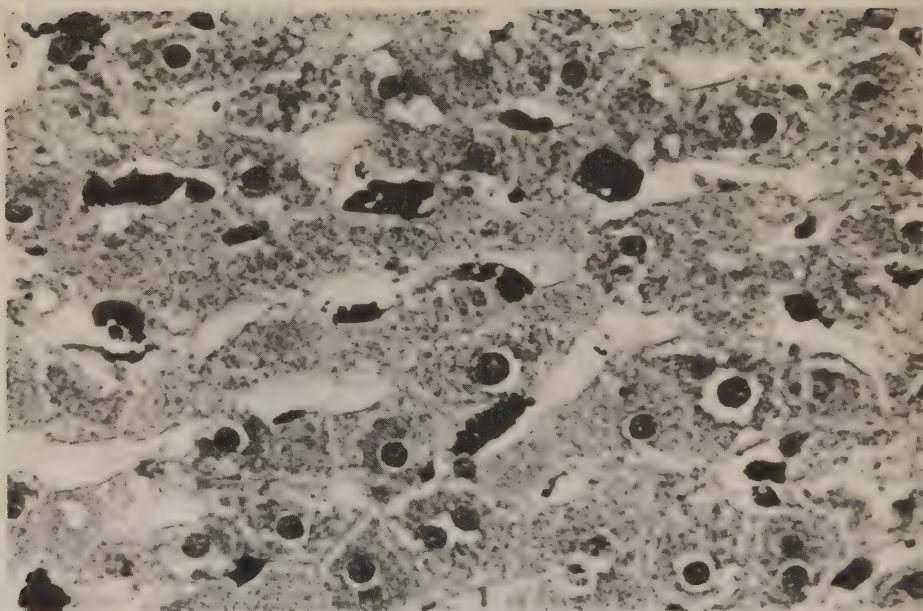


Abb. 2: Histologischer Schnitt der Leber eines Kaninchens aus dem in Abb.1 dargestellten Versuch.
Die Kupfer'schen Sternzellen sind massiv mit Tusche beladen, während die Leberparenchymzellen intakt sind*)

*) Für die Anfertigung der histologischen Präparate danke ich Herrn Prof. P. Schmitz-Moormann, Path. Institut Marburg/Lahn.

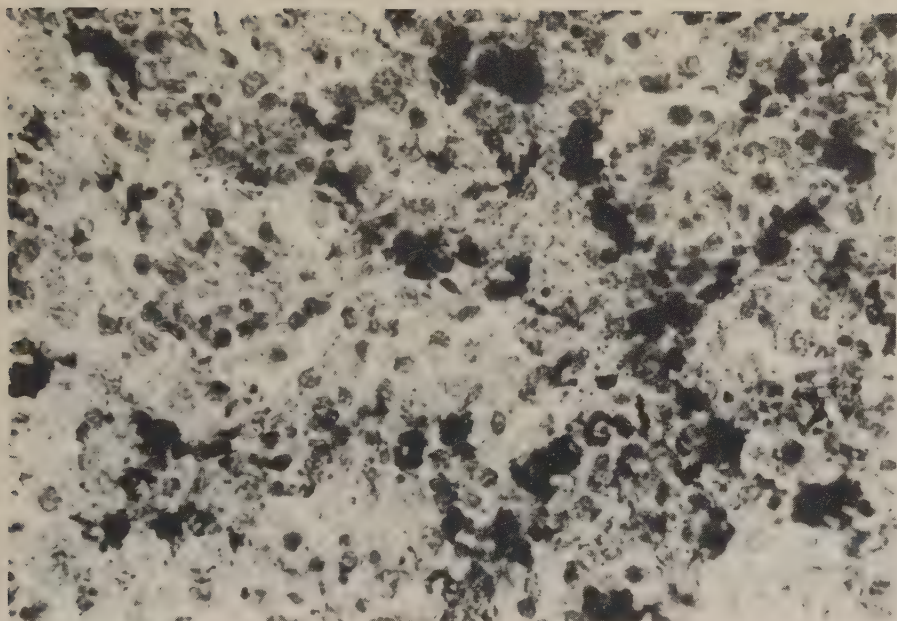


Abb. 3: Diffuse Speicherung von injizierter Tusche in den Retikulumzellen der Milz des Kaninchens in Abb. 1.

Das Verhalten der PBJ-Radioaktivität im Serum

Der Verlauf der PBJ-Radioaktivität im Serum wurde jeweils für 3 Kaninchen der Gruppe A, B und C in der Abb. 5, 6, und 7 nacheinander dargestellt. Im ersten Zeitabschnitt kommt es nach i. v.-Gabe von markiertem Protein zu einem schnellen Abfall der Radioaktivität, entsprechend der Verteilungsphase. In der langsameren Phase, die am 2. Tag beginnt, verläuft die Kurve im halblogarithmischen Maßstab, was der Eliminationsphase entspricht. Die Halbwertszeiten des markierten Proteins sind für die Kontrolltiere, in der Tabelle II, für die mit einmaliger Dosis Zymosan behandelten Tiere in der Tabelle III und für die mit Tusche behandelten Tiere in der Tabelle IV zusammengestellt. Während die Halbwertszeit des markierten Proteins für 13 Kontrolltiere $24,7 (\pm 5,1 \text{ 1 Std.})$ betrug, war diese für die mit Zymosan behandelte Gruppe $26,1 (\pm 5,4) \text{ Stunden}$. Ein signifikanter Unterschied betreffend die Halbwertszeit der vorbehandelten Tiere gegenüber den Kontrolltieren war nicht zu verzeichnen ($p > 0,05$). Für die Tiere, die mehrere Tage mit Zymosan vorbehandelt waren, ist der Verbleib der prozentualen proteingebundenen Radioaktivität nach intravenöser Injektion im Serum für die verschiedenen Gruppen (D 1, D 2 und D 3) in der Tabelle V zusammengestellt. In der Gruppe D 1, wo den Tieren biologisch gereinigtes Enzymprotein intravenös injiziert wurde, war die Schwundrate der proteingebundenen Radioaktivität sowohl für die Kontrollgruppe, als auch für die mit Zymosan behandelte Gruppe insgesamt langsamer als bei den Gruppen D 2 und D 3, welche nicht biologisch gereinigtes Enzymprotein intravenös verabreicht bekamen. Die Schwundrate der proteingebundenen Radioaktivität bei zymosanbehandelten Tieren war in der Gruppe D 1 und D 2 kaum von der Kontrollgruppe unterscheidbar. Nur in der Gruppe D 3 war die Schwundrate der mit Zymosan behandelten Tiere in den ersten 10 Stunden geringer, als in der Gruppe der Kontrolltiere ($p < 0,02$).

Auffallend war, daß bei 4 von 5 mit Zymosan behandelten Tieren dieser Gruppe histologisch in der Leber eine ausgeprägtere Sternzellaktivierung nachweisbar war, als in den Gruppen D 1 und D 2. Versucht man die Schwundrate der proteingebundenen Radioaktivität bei allen Kaninchen, die auf mehrtägige Zymosangabe in der Leber deutliche Sternzellaktivierung zeigten, ihrer entsprechenden Kontrollgruppe gegenüberzustellen, so ist hier für die ersten Stunden (8-9 Std.) nach intravenöser Injektion des Enzymproteins eine langsamere Schwundrate der proteingebundenen Radioaktivität festzustellen (Tabelle VI). Für den späteren Zeitabschnitt, nämlich zu Beginn der Eliminationsphase sind diese Unterschiede in der Schwundrate nicht mehr signifikant.



Abb. 4: Bildung von Granulomen in der Leber eines mit mehrmaliger Zymosangabe vorbehandelten Kaninchens.

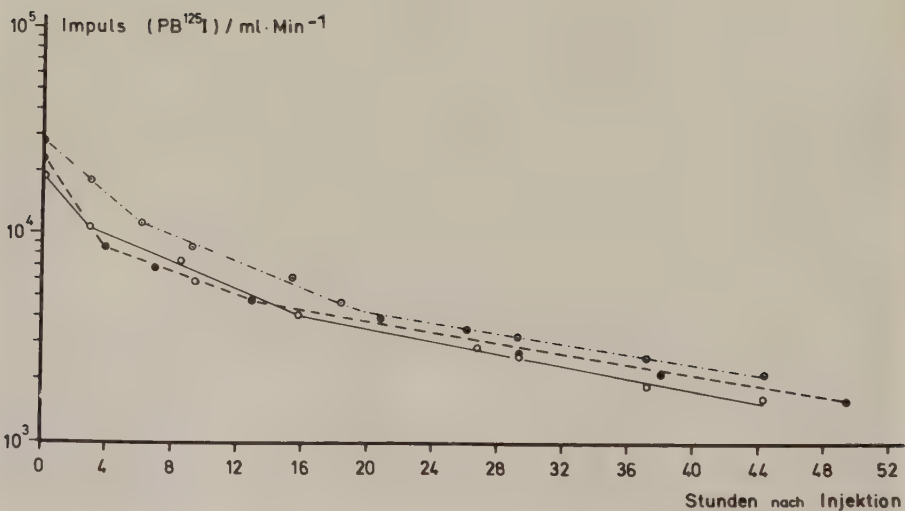


Abb. 5: Verhalten der proteingebundenen Radioaktivität bei drei Kaninchen nach i. v. Injektion markierter C-GOT unter Einfluß von Zymosan. Den Kaninchen wurde 2 Stunden vor C-GOT Injektion 10 mg Zymosan pro kg/Körpergewicht i. v. injiziert. (s. Tabelle I)

Tabelle I

Grad der Histologischen RES-Veränderungen der Kaninchenleber nach mehrmaliger Gabe von Zymosan (Gruppe D) gegenüber Kontrolltieren (A)

Zahl der Tier mit Sternzell- aktivierung			Zahl der Tiere mit portaler Infiltration	
	D	A	D	a
keine	2	1	1	2
angedeutet	2	8	1	1
schwach bis leicht	4	1	7	7
leicht bis mäßig	2	—	—	—
mäßig stark	—	—	1	—

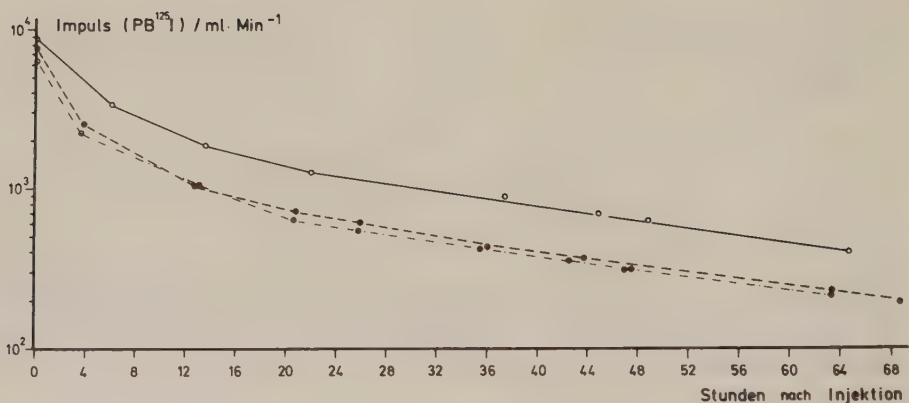


Abb. 6: Verhalten der proteingebundenen Radioaktivität bei drei Kaninchen nach i. v. Injektion markierter C-GOT unter Einfluß von indischer Tusche. Den Kaninchen wurde zusammen mit der markierten C-GOT Injektion 100 mg Tusche pro kg/Körpergewicht injiziert. (s. Tabelle II)

Tabelle II

Halbwertszeit der markierten C-GOT bei Tieren ohne Vorbehandlung
(n = 13) mit Angabe des Tiergewichtes und der Untersuchungsdauer

Gewicht der Kaninchen (KG)	Untersuchungsdauer (Stunden)	HWZ (Stunden)
2,6	30	21,2
3,2	44,5	19
4,1	46,3	30
3,1	44,5	24
3,6	51,5	29
4,1	39,5	22
4,3	50	23
3,4	64	34
3,7	63,5	29
3,7	53,5	21,5
3,8	45,5	29,5
3,7	52	16,0
3,8	52	24

Mittelwert 24,7 ($\pm$ 5,1)

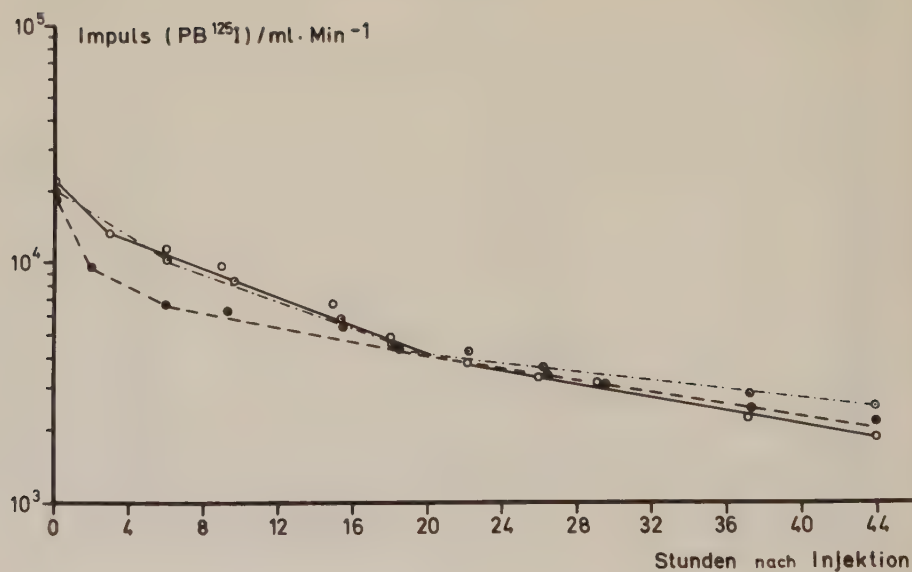


Abb. 7: Verhalten der proteingebundenen Radioaktivität bei drei Kaninchen (Kontrolltiere) nach i. v. Injektion C-GOT. (s. Tabelle III)

Tabelle III

Halbwertszeit der markierten C-COT bei mit Zymosan vorbehandelten Kaninchen (10 mg/kg Körpergewicht)
(n = 8 g)

Gewicht (KG)	Untersuchungsdauer (Stunden)	HWZ (Stunden)
2,6	44	22
5,2	44	31,5
3,6	44,5	20,7
3,8	46,5	34,5
3,4	46,5	29,2
3,4	53,5	17,3
3,9	71	26,7
3,4	53	27,5

Mittelwer 26,1* ($\pm$ 5,7)

*gegenüber dem Wert der Tabelle II nicht significant
($p > 0,05$)

Tabelle IV

Halbwertszeit der markierten C-GOT bei den mit Tusche (10 mg/kg Körpergewicht vorbehandelten Kaninchen
(n = 8)

Gewicht (KG)	Untersuchungsdauer (Stunden)	HWZ (Stunden)
5,2	65	25,5
4,2	70	30,5
2,7	69	30,5
3,7	64	29
3,6	54,5	22,5
3,5	53,3	18
3,3	51,8	21,5
2,9	53,5	33,7

Mittelwert 26,4* ($\pm 5,4$)

*p > 0,05 gegenüber dem Mittelwert Tabelle II

Tabelle V

Prozentualer Verbleib des markierten Proteins im Serum nach intravenöser Injektion unter mehrfacher Vorbehandlung der Tiere mit Zymosan für Gruppe D 1, D 2 und D 3.

D 1			D 2			D 3		
Kontrollgruppe n = 3			Zymosangruppe n = 5			Kontrollgruppe n = 5		
Std. nach Injek- tion	prozent. Verbleib	Std. nach Injek- tion	prozent. Verbleib	Std. nach Injek- tion	prozent. Verbleib	Std. nach Injek- tion	prozent. Verbleib	prozent. Verbleib
0,11	100* ± 4,31	0,2	100 ± 16,2	0,13	100 ± 6,9	0,15	100 ± 14,4	100 ± 14,3
4,4	44 ± 3,6	5,8	45,5 ± 6,8	4,9	21,2 ± 5,1	3,1	37 ± 7	47 ± 9,1
7,5	2,7 ± 0,38	8,1	34,5 ± 8,4	8,5	11 ± 3,1	5,8	18,8 ± 3,4	27* ± 6
15	12,9 ± 0,75	16,5	17,8 ± 6	18,2	3,5 ± 1,6	8,7	11,6 ± 2,4	16,5* ± 3,1
20,3	10,2 ± 0,5	20,8	13,4 ± 5,3	24,6	2,4 ± 1,2	18,5	3,6 ± 0,8	4,9 ± 1,2
36,2	6,5 ± 0,5	31,7	7 ± 2,1	32,3	1,76 ± 1,2	24,5	2,6 ± 0,7	3,35 ± 1,1
41,4	4,9 ± 0,4	41,9	4,15 ± 0,9	41,2	1,32 ± 0,84	32,7	1,5 ± 0,5	2,1 ± 1,1
45	4,5 ± 0,4	45,4	3,7 ± 0,7	48,1	1,14 ± 1,1	41,5	1,06 ± 0,36	1,26 ± 0,76
50	4,1 ± 0,65	51,6	3 ± 0,5			50,6	0,8 ± 0,24	1,1 ± 0,81
54	3,8 ± 0,5	54,6	2,9 ± 0,5					

* P < 0,02

Tabelle VI

Verbleib des markierten Enzymproteins im Serum nach intravenöser Injektion bei Tieren mit deutlicher RES-Aktivierung der Leber unter Behandlung mit Zymosan sowie Kontrolltieren.

Zymosangruppe (n = 6)		Kontrollgruppe (n = 5)	
Zeit Std.	Prozentualer Verbleib	Zeit Std.	Prozentualer Verbleib
3,5	47* (± 3)	3,1	37 (± 7)
6,6	26,9 ($\pm 4,5$)	5,8	18,8 ($\pm 3,4$)
9,3	16,2* (± 2)	8,7	11,6 ($\pm 2,4$)
19	4,6 (± 2)	18,5	3,6 ($\pm 1,8$)
25	3 ($\pm 0,9$)	245	2,6 (± 47)

*gegenüber Kontrolltieren signifikanz ($p < 0,02$)

Diskussion

In der Einleitung wurde kurz auf die Rolle des RES für den Abbau der Enzymproteine hingewiesen. Wir gehen auf die Ergebnisse dieser Autoren ausführlicher ein;

Fleischer und Wakim haben die Schwundrate der mitochondrialen und zytoplasmatischen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase aus Hundeorganen bei gleicher Spezies, durch die Bestimmung der Enzymaktivität nach der intravenösen Injektion der hochgereinigten Enzyme bestimmt. Eine Gruppe der Tiere bekam zwei Stunden und eine andere Gruppe 24-48 Stunden zuvor eine einmalige Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht Zysamon intravenös. Die Autoren fanden, daß die Schwundrate dieser Enzyme bei jenen zwei Stunden zuvor mit Zysamon behandelten Tieren, nur in den ersten 6 Stunden deutlich langsamer erfolgt, als bei den Kontrolltieren. Im späteren Verlauf entsprach die Schwundrate bei dieser Gruppe jener der Kontrollgruppe. Bei den Tieren, welche 1 bis 2 Tage zuvor einmalig Zymosan erhalten hatten, fanden diese Autoren, daß die Schwundrate der Enzyme im späteren Verlauf (Eliminationsphase) im Vergleich zu den Kontrolltieren gesteigert ist. Aufgrund dieser Untersuchungen nahm man an, daß dem Reticuloendothialen System eine besondere Bedeutung für den Abbau der Enzyme zukommt (12, 13).

Haug und Mitarbeiter (21), konnten nach intraperitonealer Injektion der Lactatdehydrogenase aus Leberhomogenaten der Ratte keinen Anstieg des Enzyms in der Blutbahn der Ratte beobachten. Diese Autoren haben daraus geschlossen, daß das Enzym im Verlauf des portalen Weges vom Reticuloendothialen System gespeichert wird und deshalb nicht mehr im allgemeinen Kreislauf erscheint.

Daher muß das Reticuloendothiale System des lymphatischen Systems am endogenen Enzymabbau entscheidend beteiligt sein (21). Auch Mahy und Mitarbeiter (27, 28) fanden bei der Vorbehandlung der Mäuse mit RES-blockierenden Verbindungen, wie z. B. kolloidalem Kohlenstoff oder Cholesterinoleat, eine verzögerte Schwundrate bei der aus Kaninchenmuskeln gewonnen, intravenös injizierten Lactatdehydrogenase (LDH) im Serum der Mäuse. Die gleichen Autoren fanden unter Gabe von Stilbesterol, einer das RES-aktivierenden Verbindung, eine Beschleunigung der Schwundrate der LDH aus dem Serum.

Hiatt und Mitarbeiter fanden nach Vorbehandlung von Hunden mit Zymosan eine verringerte Schwundrate der Schweineamylase nach intravenöser Injektion im Serum (23).

Dagegen konnte Domelöf nach Vorbehandlung der Ratten mit Eisendextran keine Änderung der Schwundrate der enzymatischen Aktivität der intravenös injizierten Glutamat-Pyruvat-Transaminase feststellen (10).

Bei allen oben genannten Arbeiten sind die Werte aufgrund der Bestimmung der enzymatischen Aktivität im Serum gemessen worden. Da manche verabreichten Fremdstoffe, wie auch Zymosan organschädigend wirken und damit Enzyme freisetzen können (43), kann eine Messung infolgedessen durch die endogene Freisetzung aus den Organen, wie z. B. der Leber beeinflusst werden, wodurch eine langsamere Schwundrate vorgetäuscht werden kann. Bei den Untersuchungen von Haug und Mitarbeiter (21) ist kritisch zu bemerken, daß keine Angaben über den Abtransport der intraperitoneal verabreichten Enzyme aus dem intraperitonealen Raum gemacht worden sind.

Bei der Blockierung der Zellen des Reticuloendothelialen Systems mit kolloidalem Kohlenstoff ist nach unseren Ergebnissen keine Änderung der Halbwertszeit des intravenös injizierten heterologen Enzymproteins gegenüber der Halbwertszeit bei den Kontrolltieren feststellbar. Bei den Tieren, die vor der Injektion eine einmalige Dosis Zymosan intravenös verabreicht bekamen und bei den Tieren, die über längere Zeit mit Zymosan vorbehandelt waren, war auch eine Beschleunigung der Schwundrate des intravenös verabreichten markierten Enzymproteins gegenüber der Kontrollprobe nicht nachweisbar. Dagegen konnte in den ersten zehn Stunden während der Initialphase oder Verteilungsphase nach intravenöser Injektion bei denjenigen Tieren, die eine deutliche Sternzellaktivierung zeigten, eine leichte Verzögerung der Schwundrate beobachtet werden. Da diese Verzögerung in der Initial- oder Verteilungsphase zu beobachten war, ist es möglich, daß der Verteilungsraum, der vom Volumen der Extrazellulären Flüssigkeit bestimmt wird, möglicherweise unter der Behandlung mit Zymosan zugenommen hat. Gegen die Annahme, daß das RES Bedeutung für den Abbau der Proteine hat, spricht auch die geringe Speicherung des radioaktiv markierten Proteins im lymphatischen System nach intravenöser Injektion: Mac Farlane fand 8 Tage nach der Injektion von C 14 markiertem Gammaglobulin bei Kaninchen eine geringere Radioaktivität in den Lymphknoten verglichen mit Leber, Lunge, Ileum und Niere (34). Bär und Mitarbeiter fanden ebenfalls eine verringerte Radioaktivität nach intravenöser Injektion der C 14-markierten Lactatdehydrogenase bei Hunden (Band 5) in den Lymphknoten verglichen mit Speicheldrüse, Niere, Pankreas, Kunge und Leber (3).

Nach den Untersuchungen von Massarrat war die Radioaktivität der Jod 125-markierten Glutamat-Oxalacetat-Transaminase aus Schweineherzcytoplasma bei gleicher Spezies in den Lymphknoten nicht höher, als im Lebergewebe. In dem Knochen war die Radioaktivität viel geringer, als im Lymphknoten (gemessen an der Radioaktivität/gr. Feuchtwicht).

Die Anreicherung der Radioaktivität in Organen mit besserer Organdurchblutung wie Nieren, Leber, endokrine Drüsen, ist besonders hoch (33). Zu ähnliche Ergebnissen kamen andere Autoren aufgrund der Bestimmung der Radioaktivität in den verschiedenen Organgeweben nach intravenöser Injektion von markierten Plasmaproteinen (17, 34, 39).

Während nach den bisher bekannten Untersuchungen den Zellen des Reticuloendothelialen Systems für den Abbau denaturierter Proteine und Antigen-Antikörperkomplexe eine Bedeutung zukommen (1, 26, 37) zeigen unsere Ergebnisse, daß sie für den Abbau der homologen und heterologen Proteine keine wesentliche Rolle spielen.

Zusammenfassung

Die Rolle des reticuloendothelialen Systems für den Abbau des Enzymprotein Glutamatoxalacetat-Transaminase aus Schweineherz bei Kaninchen wurde untersucht. Hierzu wurden die Tiere mit indischer Tusche (zur Blockierung des reticuloendothelialen Systems) und Zymosan (zur Aktivierung des RES) behandelt.

Die Schwundrate des Jod 125-markierten Enzymproteins nach intravenöser Injektion wurde im Serum der Tiere über 2 Tage untersucht.

Eine Änderung der Schwundrate des heterologen Enzymproteins aus dem Serum konnte weder bei Blockierung, noch bei Aktivierung des reticuloendothelialen Systems beobachtet werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß entgegen früheren Annahmen dem reticuloendothelialen System keine Bedeutung für den Abbau der homologen und der heterologen Proteine, soweit sie nicht denaturiert sind, zukommt.

Lebenslauf

Ich bin als Sohn eines Angestellten am 7. 7. 42 in Mischkabh in Irak geboren.

Nach Vollendung meines 6. Lebensjahres habe ich bis zum 12. Lebensjahr die Volksschule besucht. Danach besuchte ich eine dreijährige Mittelschule. Danach zog ich in die Stadt Karbala in Irak um ein naturwissenschaftliches Studium aufzunehmen. Nach zweijährigem Studium an der höheren Schule habe ich 1960 mein Abitur mit gutem Erfolg abgeschlossen.

1961 kam ich nach Deutschland, um hier Medizin zu studieren und in der Absicht, für immer hier in Deutschland zu bleiben. Dies wegen der schlechten allgemeinen Lebensbedingungen und der schlechten Wirtschaftslage in meiner Heimat.

an einem Dolmetscherinstitut in Heidelberg an der Universität erhielt ich ein halbes Jahr Deutschunterricht. Danach zog ich Mitte 1962 nach Frankfurt/Main, wo ich mit dem Medizinstudium begann. 1964 zog ich nach Marburg/Lahn um dort mein Studium fortzusetzen. 1968/69 habe ich mein Arzt-Examen abgelegt.

Danach legte ich meine Medizinalassistentenzeit an der Universitätsklinik: Chirurgie, Mediz. Poliklinik und Frauenklinik in Marburg/Lahn ab und arbeitete dort weiter als Assistenzarzt für Chirurgie.

1972/73 bin ich von Marburg nach Höxter a. d. Weser umgezogen. Dort war ich als Assistenzarzt an der chirurg. Abteilung des Evangelischen Krankenhauses tätig.

1973 bin ich dann von Höxter nach Bad Driburg umgesiedelt.

Dort habe ich ebenfalls in der Chirurgie des St. Josef-Hospitals als Assistenzarzt gearbeitet.

Seit dem 1. 4. 1975 bin in der Chirurgie des St. Augustinus-Krankenhauses Düren-Lendersdorf als Assistenzarzt tätig.

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof. Dr. Buchholz	Frauenklinik
Prof. Dr. Mertini	Innere Medizin
Prof. Dr. Hammelmann	Chirurg. Klinik
Prof. Dr. Straub	Augenklinik
Prof. Dr. Berends	HNO-Klinik
Prof. Dr. Friedrichs	Hautklinik
Prof. Dr. Löhrer	med. Poliklinik (ehemaliger Direktor)
Prof. Dr. Hort	Patholog. Institut
Prof. Dr. Petry	anatomisches Institut
Prof. Dr. Bock	Kinderklinik
Prof. Dr. Seidel	zoolog. Institut
Prof. Dr. Schleier	Gerichtsmedizin
Prof. Dr. Jakob	Nervenklinik
Prof. Dr. Exner	orthop. Klinik
Prof. Dr. Hensel	physiolog. Institut
Prof. Dr. Karlsruhn	Biochemie

Literatur

1. Almond, A. F. G. R. Francis, J. D. Hawkins.
Awormall: The Fate of intravenously injected antigenic proteins and Haptens in immune and normal Rabbits. Radioisotope conference 1954, vol I. Page 360, Butterworths scientific publication 1954 London.
2. Aschoff, L.: Das Reticuloendothiale System.
Ergebnis.
Inn. Med. Kinderheilk. 26, I (1924).
3. Bär, U., R. Friedel, H. Heine, D. Mayer usw. Ohlendorf F. W. Schmidt u. I. Trautschold:
Studien zur Enzymelemenation III Untersuchungen über den Umsatzextracellulärer 14 C-markierten LDH 5, Enzyme 14, 133 (1973).
4. Benacerraf, B. G. Biozzi, B. N. Halpern, C. Stiffel u. D. Mouton:
phagocytosis of heat denatured human Serum albumin Labelled with 131 J and its use as a meam of investigating Liver blood flow. Brit. J. Exp. Pathl. 38, 55 (1959).
5. Benacerraf, B. M. Sebestyen. N. S. Cooper:
The Clearance of antigen antibody Complexes from the blood by the Reticuloendothelialen System J. Immunol. 82 131 (1959).
6. Biozzi, G. B. B. Benecerraf, U. B. N. Halpern:
Quantitative study of the granulopoetic acttivity of the Reticuloendothelialen System. II A study of the kinetics of the granulopoetic activity of the RES in realion to the dose of carbon injected Relationship between the weighth of the organs and their activity.
Brit. J. Exp. Path. 34, 441 (1953).
7. Bott, P. A. U. A. N. Richards:
Thepasstage of Protein molecules Through glomerular membran.
J. biol. chem. 141, 291 (1941).

8. Cohen, S. M. A. H. Gorgon:
Catabolism of Plasma albumin by the perfused rat liver
biochem. J. 70, 544, (1958).
9. Cohen, S. M. u. W. G. Walker:
The use of renal clearance of enzymes as an indicator
of selective permeability of the renal glomerulus.
J. Lab. clin. Med. 70, 571 (1967).
10. Domlöff L. Elimination of Serum Glutamat-Pyrovic Transaminase
in Iron-Rats-A. Funktion of the RES?
J. Reticuloendothelien society
15, 41 (1973).
11. Filkins, J. P. M. Lubitz u. J. J. Smitz:
the effect Zymosan and Glucan on the Reticuloendothelien
System and on resistance to traumatic shock Angiology.
15, 465 (1964).
12. Fleischer, G. A. and K. G. Waking
the fate of enzymes in body fluids an Experimental study, II,
Disappearance Rates of Glutamic-Oxalacetic Transaminase.
I. under Various Condition.
J. Lab. clin. Med. 61, 88 (1963).
13. Fleischer, G. A. and K. G. Wakim
The fate of enzymes in body fluids and Experimental
study, III Disappearance rates of Glutamic Oxalacetic Trans-
aminase II under Various Condition.
J. Lab. clin. Med. 61, 98 (1963).
14. Fleischer, G. A. und K. G. Wakim
The role of the intestine in the disposal of enzymes
from blood. Enzym. biol. clin. 9, 81, (1968).
15. Franks, J. J., K. W. Edwards, W. S. Lackey u. J. B. Fitzgerald
The role of the gut in albumin catabolism. II studies in
enterectomized rabbits.
J. Gen. Physiol. 46, 427 (1963).

16. Freeman, T. A. H. Gordon, u. J. H. Humprey:
Distinction between Catabolism of native an denaturend
Protein by the isolated perfused Liver after Carbon Loading.
Brit. J. Exp. Path. 39, 459, (1958).

17. Garvey, J. S. D. V. Bitzmann and r. T. Smith:
The distribution of S-35 Labeled bovine Serum albumin in
newborn and immunologically tolerant adult rabbits.
J. Exp. med. 112, 533 (1960).

18. Gifflin, D. u. L. Hughes:
In the Plasma Protein F. Ptnam Academic Press New York
and London 1960.

19. Gordon, A. H.:
The rate of catabolism. of rat Transferrin in Vivo and by
the perfused rat Liver.
H. Peeters, Prot. Biol. Fluids 110, 71, (1963).

20. Halpern B. N. B. Benacerraf u. G. Biozzi:
Quantitative study of Granulopeotic acticity of Reticuloen-
dothialen System Brit. J. Exp. Path. 34, 426 (1963).

21. Haug, H. and H. Mannes:
Zur Frage des endogenen Abbaues von Enzymen.
Klin. Wschr. 47, 225 (1969).

22. Heller, J. M.:
Reticuloendothialen System Structure and Funktion.
New York 1958 Ronald Press co Page 189.

23. Hiatt, N. und G. Bonrris:
Removal of Serum amilase in dogs and the influence of
Reticuoloendothialen System Blockade,
Amer. J. Physiol. 210, 133 (1966).

24. Kampine, J. P. Bf. Banaszack u. J. J. Smith:
Alteration of Activity Circulatory Responseveness in the dog.
J. Reticuloend. Soc. 2, 172, (1966).

25. Katz, J. S. Rosenfeld, U. A. L. Sellers:
Sites of Plasma albumin catabolism. in the rat. Amer. J.
Physiol. 200, 130 (1961).
26. Kruse, H. u. P. D. Mc Master:
The Distribution and Storage of blue antigenic Azoproteins
in the Tissues of Mice.
J. Exp. Med. 90, 425 (1949).
27. Mahy, B. W. J. K. E. K. Rowson:
Isoenzymic specificity of impaired clearance in mice infected
with Riley virus Scienc 149, 756 (1965).
28. Mahy, B. W. J. K. E. K. Rowson: U C. W. Parr:
Studies on the mechanism. of action Rilly virus IV the
reticuloendothialen System and impaired Plasma enzym
clearance in infected mice.
J. Exp. Med. 125, 277 (1968).
29. Massarrat, S. :
Verhalten und Schwundrate der Glutamat Oxylacetat Trans-
aminase in der Blutbahn.
Zschr. ges. Exp. med. 148, 56 (1968).
30. Masserrat, S. und H. Köbler:
Über die Elimination der Cytoplasmatischen Glutamat-Oxal-
acetat Transaminase (C-GOT) im Intestinaltrakt.
Galle und Urin.
Arch. Klin. Med. 216, 285 (1969).
31. Masserrat, S.:
Das Schicksal der Cytoplasmatischen GOT im Organismus
Habilitationsschrift, Philipps, Universität Marburg 1969.
32. Maassarrat, S.:
Effect of ^{131}J - Labeling on Various Properties of Non-
mitochondrial Aspartate Transaminase I. Under Various con-
ditions.
Zschr. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10, 61, (1972).

33. Massarrat, S.:
Breakdown of Nonmitochondrial Aspartate Transaminase
from Pig Heart in Piglets.
Res. Exp. med. 162, 257 (1974).
34. Mac. Farlane, A. S.:
Use of Labelled Proteins in the Study of nutritional Problems.
Progress in Biophysics 7, 116 (1957).
35. Mac Farlane, A. S.:
Catabolism of Plasma Lancet Vol 1 131 (1963).
36. Oeff, K. U. A. König:
Untersuchungen mit radioaktivem Serumeiweißfraktionen.
V. Lokale Kapillarpermeabilität und austauschbares Albumin
in verschiedenen Organen der Ratte.
Z. ges. exp. med. 127, 484 (1956).
37. Penn, N. W.:
The requirements for Serum albumin metabolism in Sub-
cellular fraction of Liver and brain.
Biochim. Biophys. Acta 37, 55 (1960).
38. Rosa, U. G. A. Scasselati, F. Pennisi, N. Riccioni, P. Giagnoni u. R.
Giordani:
Labeling of human fibrinogen with I 131 by electrolytic iodina-
tion.
Biochim. Biophys. Acta 86, 519 (1964).
39. Rotschild, M. A. A. Baumann, R. S. Yalow and S. A. Berson:
Tissue Distribution of I-131 Labelled human Serum albumin
following intravenous administration.
J. clin. Invest. 34, 1354 (1955).
40. Schulze H. E. J. F. Heremans:
Sites of Catabolism of Plasma Proteins P 487
In Molecular Biology of Human Proteins, Vol 1 Elsevier
Publishing comp. Amsterdam, London, New York (1966).

41. Seifert, J. A. Fateh- Moghadam, U. Hopf, W. Land, W. Bebdel u. G. Lob:
Die Antigen- Eliminationstechnik beim Hund.
42. Ullberg, S. G. Birke, B. Ewaldson, E. Hansson, S. O. Lijedahl, L. O. Plantin,
J. Wetterfors:
The role of the gastrointestinal tract in the elimination of
serum albumin.
Acta, med. scand. 167, 421 (1960).
43. Wakim K. G. u. G. A. Fleischer:
The fate of enzymes in body fluids an experimental study.
IV Realtionship of the Reticuloendothialen System on Various
enzymes.
J. Lab. Clin. med. 61, 107, (1963).
44. Waldmann, T. A. eta. Stoberu R. P. Mogielnicki
The renal Handling of low Molecular weigth proteins II.
Disorders of Serum Protein, Catabolism in patiens with
Tubolaf proteinuria the Nephrotic syndrome of urmia.
J. Clin. Inves. 51, 2162 (1972).
45. Wetterfors, S. R. Gullberg, S. O. Illjedahl, L. O. Plantin, G. Birke und
Olhagen:
Role of the stomach and small intestine in albumin.
Clin. Sci. 25, 281 (1963).

